Deutscher Bundestag **Drucksache 16/4050**
16. Wahlperiode 11. 01. 2007

Unterrichtung

durch die Bundesregierung

Zweiter Erfahrungsbericht der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes (Zweiter Stammzellbericht)

Inhaltsverzeichnis

Zugeleitet mit Schreiben des Bundesministeriums für Gesundheit vom 10. Januar 2007 gemäß § 15 des Gesetzes zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG).

1. Prüfung und Genehmigung von Anträgen auf Einfuhr und Verwendungmenschlicher embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken

1.1 Berichtsauftrag und Berichtszeitraum

Dieser Erfahrungsbericht erfolgt aufgrund von § 15 des Gesetzes zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG) vom 28. Juni 2002 (BGBl. I S. 2277), das zuletzt durch Artikel 37 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407) geändert worden ist. Gegenstand der Berichtspflicht ist eine Sachdarstellung der Durchführung des Gesetzes sowie des aktuellen Forschungsstands zu embryonalen und anderen Formen menschlicher Stammzellen. Durch den Bericht soll der Deutsche Bundestag in die Lage versetzt werden, die mit der bisherigen Regelung gemachten Erfahrungen in seine Meinungsbildung zur Bewertung der Sachlage einzubeziehen.

Der vorliegende Bericht umfasst den Zeitraum vom 1. Januar 2004 bis zum 31. Dezember 2005 (2. Berichtszeitraum).

1.2 Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren

Im aktuellen Berichtszeitraum wurden dreizehn Anträge auf Genehmigung der Einfuhr und Verwendung bzw. Genehmigung der Verwendung humaner embryonaler Stammzellen (humaner ES-Zellen) gemäß § 6 StZG an das Robert Koch-Institut (RKI) als zuständige Genehmigungsbehörde nach § 7 Abs. 1 StZG gestellt, zusätzlich waren noch zwei Anträge aus dem 1. Berichtszeitraum anhängig. Neun Anträge wurden genehmigt, zwei wurden bestandskräftig abgelehnt. Zu vier Anträgen war das Genehmigungsverfahren am 31. Dezember 2005 noch nicht abgeschlossen. Drei der genehmigten Projekte bauen auf bereits zuvor genehmigten und seit ca. zwei Jahren durchgeführten Forschungsvorhaben auf und erweitern diese teils deutlich. In Deutschland werden humane ES-Zellen von insgesamt elf Forschungsgruppen verwendet, die in vierzehn genehmigten Projekten tätig sind.

Im Berichtszeitraum des Ersten Erfahrungsberichts über die Durchführung des Stammzellgesetzes[1] (1. Juli 2002 bis 31. Dezember 2003) waren fünf Anträge auf Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen genehmigt worden.

Die insgesamt sechste Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen erging am 8. Oktober 2004 an das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Berlin. Ziel des Projektes ist es, Signalübertragungswege in humanen ES-Zellen aufzuklären, die der Aufrechterhaltung des undifferenzierten Zustandes dieser Zellen dienen bzw. an der Auslösung ihrer Differenzierung beteiligt sind. Solche Signalübertragungswege, die sich in ES-Zellen verschiedener Spezies grundlegend unterscheiden, spielen bei biologischen Prozessen wie Entwicklung und Differenzierung eine ausschlaggebende Rolle. In diesem Zusammenhang sollen auch Faktoren identifiziert werden, die von den humanen ES-Zellen selbst oder von den Nährzellen produziert werden und die gegebenenfalls für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz humaner ES-Zellen notwendig sind. Die Kenntnis von Signalübertragungswegen und Faktoren, die die Pluripotenz humaner ES-Zellen regulieren bzw. Differenzierung auslösen können, ist für das Verständnis der molekularen Grundlagen frühester Prozesse der menschlichen Entwicklung von hoher Relevanz. Gleichzeitig können solche Kenntnisse auch zur Etablierung neuer Systeme für die Kultivierung humaner ES-Zellen, beispielsweise ohne Verwendung tierischer Nährzellen, aber auch anderer Stammzelltypen, beitragen.

Die siebente Genehmigung, die am 21. Oktober 2004 ebenfalls an das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Berlin, erging, wurde für ein Projekt vergleichender Untersuchung des organotypischen Integrationspotentials von Hepatozyten aus humanen embryonalen und adulten Stammzellen im Mausmodell erteilt. In dem Projekt sollen humane ES-Zellen zu Leberzellen differenziert, hinsichtlich ihrer Funktionalität charakterisiert und mit Leberzellen verglichen werden, die aus Stammzellen des Nabelschnurblutes gewonnen wurden. Anschließend sollen die differenzierten Zellen daraufhin untersucht werden, ob und in welchem Maße sie sich in die sich regenerierende Leber der Maus integrieren und dort die Leberregeneration unterstützen können. Das Projekt soll somit zum einen klären, welche Faktoren die Differenzierung von Stammzellen zu Leberzellen beeinflussen, was zu einem tieferen Verständnis dieser Prozesse während der Embryonalentwicklung des Menschen beitragen kann. Zum anderen werden aus den tierexperimentellen Untersuchungen neben Erkenntnissen über die Mechanismen der Leberregeneration auch Aussagen darüber erwartet, ob in Zellkultur differenzierte humane Leberzellen prinzipiell für Gewebeersatztherapien beim Menschen geeignet sein könnten.

Die achte Genehmigung erhielt Professor Dr. Jörg Gerlach, Charité, Berlin, am 28. Januar 2005 für die Durchführung eines Projektes zur Entwicklung eines dreidimensionalen Kultursystems für die Expansion humaner ES-Zellen und deren Differenzierung in Leberzellen in einem speziellen Bioreaktor. Die entstehenden Leberzellen sollen ausgiebig charakterisiert und mit Leberzellen verglichen werden, die im selben System aus anderen humanen Stammzelltypen gewonnen wurden. Das Projekt soll einerseits Rückschlüsse auf Prozesse und Mechanismen der frühen Leberzellentwicklung des Menschen zulassen. Andererseits könnte das im Rahmen des Projektes zu entwickelnde Verfahren für die Differenzierung von humanen ES-Zellen zu Hepatozyten die Grundlage für eine künftige klinische Anwendung sein, z. B. im Falle akuten Leberversagens für eine vorübergehende, extrakorporale Leberunterstützung.

Die neunte Genehmigung wurde am 14. Februar 2005 dem Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik, Berlin, erteilt. Das Vorhaben widmet sich der funktionellen Cha-

[1] Bundestagsdrucksache 15/3639

rakterisierung von Pluripotenz-Kontrollgenen und ihrer Rolle bei der Ausprägung grundlegender Transkriptionsnetzwerke sowie von Mechanismen der Signalübertragung in Stammzellen. Diese Prozesse sind bislang wenig verstanden. Durch gezielte Manipulation humaner ES-Zellen soll die Expression bestimmter Gene unterdrückt werden, von denen man annimmt, dass sie an der Aufrechterhaltung von Pluripotenz beteiligt sind. Im Falle des Verlustes der Pluripotenz soll dann analysiert werden, welche Änderungen die Hemmung der Expression des betreffenden Gens auf das Gesamtmuster der Genexpression in diesen Zellen hat. Durch weiterführende Analysen sollen dann neue Pluripotenz-assoziierte Gene identifiziert und charakterisiert sowie schließlich Modelle für regulatorische Netzwerke zur Aufrechterhaltung der Pluripotenz in humanen ES-Zellen etabliert werden. Die Identifizierung und Charakterisierung von Pluripotenz-assoziierten Genen ist für das Verständnis der Balance zwischen der Erhaltung des Stammzellpotentials und der Einleitung der Differenzierung von humanen ES-Zellen, aber auch für das Verständnis früher Prozesse der menschlichen Embryonalentwicklung essentiell.

Die zehnte Genehmigung erging am 10. Juni 2005 an Professor Dr. Oliver Brüstle, Universität Bonn. Das Vorhaben ist eine Ergänzung seines am 20. Dezember 2002 genehmigten Vorhabens. Es ist geplant, an Maus-ES-Zellen entwickelte neue Verfahren für eine verbesserte Differenzierung zu glialen und neuronalen Vorläuferzellen auf humane ES-Zellen zu übertragen. Die entstehenden Nervenvorläuferzellen sollen charakterisiert und in verschiedenen Tiermodellen hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Integration in das Nervensystem überprüft werden, darunter auch in Nagermodellen für neurodegenerative Erkrankungen. Weiterhin soll im Rahmen dieses Projektes die Kultivierung humaner ES-Zellen, teils auf automatisierter Basis und durch Einsatz von Bioreaktoren, standardisiert werden. Davon werden einheitliche Zellpopulationen mit reproduzierbaren Eigenschaften erwartet, wie sie in der Forschung und gegebenenfalls für den möglichen späteren klinischen Einsatz benötigt werden.

Die elfte Genehmigung, die am 27. Juni 2005 erteilt wurde, erging an Professor Dr. Heinrich Sauer, Universität Gießen, für ein Vorhaben zur Analyse von Signalwegen der vaskulären Differenzierung humaner ES-Zellen mit dem Ziel der Gewinnung kardiovaskulären Gewebes. Gegenstand des Vorhabens ist zum einen die Untersuchung und Optimierung von Bedingungen für die Differenzierung humaner ES-Zellen zu Herzzellen. Besonderes Augenmerk soll dabei auf die Untersuchung molekularer Prozesse gerichtet werden, die der Herzzell-Differenzierung zu Grunde liegen, wobei besonders der Einfluss exogener Faktoren, beispielsweise mechanischen Stresses oder reaktiver Sauerstoffverbindungen, auf das Differenzierungsgeschehen analysiert werden soll. Zum anderen sollen in diesem Projekt Bedingungen etabliert und optimiert werden, unter denen aus humanen ES-Zellen transplantierbares Herzgewebe gewonnen werden kann. Dazu werden humane ES-Zellen auf verschiedene Trägermaterialien aufgebracht und anschließend unter dreidimensionalen Bedingungen differenziert. Funktion und Verträglichkeit des entstehenden Herzgewebes sollen dann in einem Mausmodell des Herzinfarktes getestet werden. Das Projekt soll somit zu einem verbesserten Verständnis der Herzzell-Differenzierung führen, es kann aber langfristig auch der Entwicklung von Methoden für die Bereitstellung transplantierbaren Herzgewebes, beispielsweise zur Behandlung der Folgen eines Herzinfarktes, dienen.

Die zwölfte Genehmigung wurde am 13. September 2005 Professor Dr. Wolfram Zimmermann, Universität Hamburg, erteilt. In dem Projekt zur Gewinnung von künstlichem Herzgewebe aus humanen ES-Zellen ist zunächst die Etablierung und Optimierung von Bedingungen für die Differenzierung humaner ES-Zellen zu Herzzellen vorgesehen, die dann umfangreich (morphologisch, biochemisch, elektrophysiologisch und pharmakologisch) charakterisiert werden sollen. Die optimierten Differenzierungsbedingungen sollen dann auf die Herstellung dreidimensionaler humaner Herzgewebestrukturen (sogenannter EHTs, engineered heart tissues) angewandt werden. Molekulare Untersuchungen während der Differenzierung und an differenzierten EHTs sowie vergleichende Untersuchungen mit primärem und erkrankten Herzgewebe sollen u. a. verstehen helfen, welche Moleküle und Signalübertragungswege an der Herzzelldifferenzierung humaner ES-Zellen beteiligt sind, woraus sich voraussichtlich Rückschlüsse auf die entsprechenden Vorgänge während der Embryonalentwicklung des Menschen ziehen lassen. Weiterhin sollen die hergestellten EHTs im Tiermodell hinsichtlich ihrer Funktionalität und Integration untersucht werden. Zusätzlich zu den erwarteten Erkenntnissen über Prozesse der Herzentwicklung beim Menschen soll mit dem System auch ein wichtiger Schritt auf dem Weg zur Etablierung eines auf humanem Herzgewebe basierenden In-vitro-Testsystems gegangen werden, mit dem zuverlässigere Aussagen als bislang über die Wirksamkeit von Pharmaka am Herzen bzw. über deren Kardiotoxizität getroffen werden könnten.

Die dreizehnte Genehmigung erging – wiederum in Ergänzung eines zuvor genehmigten Projektes – am 12. Oktober 2005 an Professor Oliver Brüstle, Universität Bonn. In dem Projekt sollen Laser-gestützte Verfahren angewandt werden, um humane ES-Zellen und daraus abgeleitete neurale Vorläuferzellen besser aufreinigen zu können. Es soll weiterhin untersucht werden, ob bislang bestehende technische Schwierigkeiten bei der Vereinzelung und gezielten genetischen Modifikation humaner ES-Zellen und abgeleiteter Vorläuferzellen durch Einsatz Laser-gestützter Verfahren überwunden werden können. Es soll ferner untersucht werden, ob mittels solcher Verfahren undifferenzierte – und damit potentiell tumorinduzierende – Zellen in differenzierten Zellpopulationen gezielt eliminiert werden können. Die optimierten Verfahren sollen dann in den bereits genehmigten Projekten zum Einsatz kommen.

Die vierzehnte Genehmigung wurde am 6. Dezember 2005 erteilt und erging an Professor Dr. Jürgen Hescheler, Universität Köln. Die Arbeiten, die in Ergänzung und Erweiterung eines bereits genehmigten Projektes durchge-

führt werden, haben die immunologische Charakterisierung humaner ES-Zellen und aus ihnen abgeleiteter Zellen des Herzens zum Gegenstand. Da die Abstoßung durch das Immunsystem als ein großes Problem auf dem Weg zu einer auf humanen ES-Zellen beruhenden Zellersatztherapie angesehen wird, soll die Expression immunologisch relevanter Moleküle auf undifferenzierten und kardial differenzierten humanen ES-Zellen vergleichend untersucht werden. Die Fähigkeit von aus humanen ES-Zellen abgeleiteten Herzzellen zur Aktivierung des menschlichen Immunsystems soll in vitro und mittelfristig auch in einem Mausmodell mit humanem Immunsystem untersucht werden. Das Projekt soll auch klären helfen, ob die vermutete vergleichsweise bessere Immunverträglichkeit von humanen ES-Zellen auch während deren Differenzierung zu Herzzellen erhalten bleibt.

Weitere Angaben zu den erteilten Genehmigungen sind im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des RKI veröffentlicht

(http://www.rki.de/cln_011/nn_225238/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Registerregister__node.html__nnn=true oder über den Pfad www.rki.de > Gesundheit A-Z > Stammzellen > Genehmigungsverfahren nach dem Stammzellgesetz > Register).

Sämtliche genehmigten Anträge betreffen die Einfuhr von Stammzell-Linien, die im Register der National Institutes of Health (NIH) des U.S. Departement of Health and Human Services registriert sind. Für den Nachweis, dass die embryonalen Stammzellen vor dem Stichtag 1. Januar 2002 gewonnen wurden und auch die anderen Voraussetzungen nach § 4 Abs. 2 Nr. 1 StZG vorliegen, kam deshalb das Verfahren nach § 6 Abs. 2 Nr. 3 StZG mit entsprechender Prüfung der Unterlagen durch die Genehmigungsbehörde zur Anwendung.

1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG

Alle genehmigten Anträge betreffen Forschungsvorhaben, die hochrangige Forschungsziele für den wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn in der Grundlagenforschung verfolgen. Daneben werden in einem Teil der Forschungsvorhaben mittel- bis langfristige Ziele zur Entwicklung neuer diagnostischer, präventiver oder therapeutischer Verfahren formuliert.

Bei den jeweiligen Forschungsvorhaben ergab sich die Hochrangigkeit der Forschungsziele nach § 5 Nr. 1 StZG überwiegend daraus, dass wissenschaftliche Fragestellungen im Bereich der Grundlagenforschung geklärt werden sollen. Diese betrafen zum einen die Eigenschaften der humanen ES-Zellen selbst, wie beispielsweise molekulare Grundlagen von Pluripotenz. Daraus ergeben sich voraussichtlich wesentliche Erkenntnisse für das Verständnis der menschlichen Embryonalentwicklung. Zum anderen ging es um die Optimierung von Methoden für eine effiziente Differenzierung von humanen ES-Zellen zu klinisch relevanten Zell- und Gewebetypen, woraus u. a. auch Erkenntnisse über die Bedingungen und Faktoren zu erwarten sind, die für die Steuerung von Wachstums- und Differenzierungsvorgängen im Menschen relevant sind. Der Schwerpunkt dieser Projekte liegt in der Charakterisierung der entstehenden Zellpopulationen z. B. hinsichtlich ihrer Zelltyp-spezifischen Eigenschaften und der Möglichkeit ihrer funktionellen Integration in das Gewebe von Versuchstieren. Daneben sollen in einem Teil der Projekte auch bereits Grundlagen für eine gegebenenfalls schon mittelfristig denkbare Entwicklung neuer therapeutischer und präventiver Verfahren gelegt werden, in denen eine Ex-vivo-Verwendung von aus humanen ES-Zellen abgeleiteten differenzierten Zellen vorgesehen ist. Dies betrifft beispielsweise die Entwicklung der Grundlagen für ein Bioreaktor-gestütztes extrakorporales Leberersatzsystem, das auf aus ES-Zell-abgeleiteten humanen Hepatozyten beruhen soll, oder die Entwicklung menschlichen Herzgewebes, das laut Angaben des Antragstellers künftig beispielsweise für eine zuverlässigere In-vitro-Testung der Kardiotoxizität von Pharmaka Verwendung finden könnte.

Die Antragsteller aller genehmigten Anträge konnten auf eigene oder fremde Voruntersuchungen an tierischen Zellen oder im Tiermodell verweisen, die nach Auffassung der Genehmigungsbehörde ausreichend waren, um die gesetzliche Voraussetzung nach § 5 Nr. 2 Buchstabe a StZG zu erfüllen und damit den Übergang zur Nutzung humaner ES-Zellen zu rechtfertigen. Es ging jeweils um Fragestellungen, deren Beantwortung einen zusätzlichen relevanten Erkenntnisgewinn durch die Verwendung humaner ES-Zellen wissenschaftlich plausibel macht.

Die gesetzliche Voraussetzung nach § 5 Nr. 2 Buchstabe b StZG, dass der mit dem Forschungsvorhaben angestrebte wissenschaftliche Erkenntnisgewinn sich voraussichtlich nur mit humanen ES-Zellen erreichen lässt, wurde von der Genehmigungsbehörde bei den genehmigten Anträgen jeweils auf der Basis der wissenschaftlich begründeten Darlegung des Antragstellers im Hinblick auf die konkrete Fragestellung anhand des aktuellen Forschungsstandes und hinsichtlich der Eignung und Verfügbarkeit möglicher Alternativen zu humanen ES-Zellen geprüft.

Im Rahmen der Prüfung der Genehmigungsvoraussetzungen nach § 6 Abs. 4 Nr. 2 StZG hat die Genehmigungsbehörde bei allen genehmigten Anträgen die ethische Vertretbarkeit der betreffenden Forschungsvorhaben im Sinne der Erfüllung der gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG bejaht.

1.4 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung

Die unabhängige, interdisziplinär zusammengesetzte Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) nach § 8 StZG, die von der Bundesregierung zum 1. Juli 2002 erstmalig und zum 1. Juli 2005 erneut berufen wurde, hat die gesetzliche Aufgabe, Anträge auf Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen zu Forschungszwecken anhand der eingereichten Unterlagen daraufhin zu prüfen und zu bewerten, ob die betreffenden Forschungsvorhaben die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG

erfüllen und in diesem Sinne ethisch vertretbar sind. Sie hat hierzu gegenüber der Genehmigungsbehörde eine schriftliche Stellungnahme abzugeben. Die Stellungnahme der ZES ist nach § 6 Abs. 4 Nr. 3 StZG eine Voraussetzung für die Genehmigung eines Antrags auf Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen zu Forschungszwecken.

Die ZES hat in ihren begründeten Stellungnahmen zu den Forschungsvorhaben, die Gegenstand der neun genehmigten Anträge sind, die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG als erfüllt und die Forschungsvorhaben in diesem Sinne als ethisch vertretbar bewertet. Sie hat die Wahrnehmung ihrer Aufgaben in ihren Tätigkeitsberichten nach § 14 der ZES-Verordnung (ZESV) vom 18. Juli 2002 (BGBl. I S. 2663), die zuletzt durch Artikel 356 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (BGBl. I S. 2407) geändert worden ist, für den Zeitraum vom 1. Oktober 2003 bis 30. November 2004 (2. Tätigkeitsbericht der ZES) und für den Zeitraum vom 1. Dezember 2004 bis 30. November 2005 (3. Tätigkeitsbericht der ZES) dargestellt. Die Tätigkeitsberichte sind unter anderem auf den Internetseiten des Bundesministeriums für Gesundheit veröffentlicht

(http://www.bmg.bund.de/cln_040/nn_604238/DE/Themenschwerpunkte/Gesundheit/Biomedizin-Stammzellenforschung/biomedizin-stammzellenforschung-node,param=.html__nnn=true oder über den Pfad www.bmg.bund.de > Themenschwerpunkte > Gesundheit > Biomedizin/Stammzellenforschung).

2. Stand der Forschung mit Stammzellen

2.1 Einleitung

Der erste Stammzellbericht stellte eine Übersicht über den Stand der Forschungen bis inklusive 2003 dar, der vorliegende zweite Bericht beschreibt exemplarisch die seit dem ersten Bericht erzielten Fortschritte. In Deutschland wurden bis zum 31. Dezember 2005 insgesamt 14 Genehmigungen zum Import von humanen ES-Zellen erteilt. Da dies nur ein kleiner Sektor der weltweiten Forschungsaktivitäten in diesem Bereich ist, schließt die Darstellung des Forschungsstandes Arbeiten außerhalb Deutschlands ein.[2] Angesichts des relativ kurzen Berichtszeitraumes wird darauf verzichtet, die fachlichen Grundlagen erneut darzustellen. Hierzu wird auf den ersten Bericht verwiesen.

2.2 Stand der Forschungen mit menschlichen embryonalen Stammzellen

2.2.1 Gewinnung und Kultur humaner embryonaler Stammzellen

Embryonale Stammzellen (ES-Zellen) sind pluripotent und können in viele Zelltypen mit hoher klinischer Relevanz differenzieren. 1998 wurden erstmals humane ES-Zellen aus menschlichen Blastozysten isoliert. Im Berichtszeitraum wurden die Verfahren weiterentwickelt, mit denen humane ES-Zellen gewonnen und kultiviert werden.

Die Kultivierung humaner ES-Zellen ist technisch anspruchsvoll, da diese Zellen eine inhärente Tendenz haben, auszudifferenzieren, und erst wenige der Faktoren bekannt sind, die für das Wachstum im undifferenzierten Zustand verantwortlich sind. Daher wird für die Kultur auf komplexe Bedingungen und Medien zurückgegriffen, die die erforderlichen Wachstumsfaktoren bereit stellen. Bis vor kurzem mussten obligat tierische Ammenzellen und tierische Produkte (Seren) zugefügt werden. Dies birgt das Risiko, tierische Krankheitserreger (z. B. Viren) auf die humanen ES-Zellen zu übertragen.

Zudem nehmen humane ES-Zellen tierische Produkte aus dem Medium auf und verändern ihre Oberflächenstruktur und damit ihre Immuneigenschaften (Martin et al., 2005). Aus diesen Gründen werden humane ES-Zellen, die mit tierischen Medien gezüchtet wurden, als ungeeignet für eine therapeutische Nutzung angesehen.

Im Berichtszeitraum ist es zunächst gelungen, humane ES-Zellen ohne tierische Ammenzellen herzustellen und zu kultivieren (Klimanskaya et al., 2005). Wenig später gelang auch die Entwicklung von Kulturmedien ohne jegliche tierische Zusätze (Ludwig et al., 2006). Die mit diesen Verfahren gewonnenen Zelllinien könnten nach infektiologischen Kriterien grundsätzlich therapeutisch eingesetzt werden.

Insgesamt existieren derzeit schätzungsweise 414 öffentlich bekannte humane ES-Zelllinien (Stand: 1. Januar 2006, vgl. Guhr et al., 2006)[3]. Darunter befinden sich seit 2005 (Verlinsky et al., 2005) auch zunehmend Stammzelllinien mit spezifischen genetischen Defekten, die der Krankheitsanalyse dienen können. Im NIH-Register registriert (und in Deutschland nutzbar) sind 71 Zelllinien, von denen 22 als derzeit für Forscher verfügbar bezeichnet werden. In Deutschland wurden Genehmigungen für Import und Verwendung von insgesamt 23 Zelllinien erteilt, die im NIH-Register gelistet sind.

2.2.2 Entwicklungspotential humaner embryonaler Stammzellen

Das langfristige Ziel medizinisch relevanter Forschung an Stammzellen ist es vor allem, Material für regenerative Therapien verfügbar zu machen; dazu müssen ES-Zellen in die benötigten Zelltypen differenzieren. Das Entwicklungspotential humaner embryonaler Stammzellen ist nachweisbar groß, z. B. wurden aus humanen ES-Zellen bereits Nerven-, Herz- und Leberzellen gewonnen.

Gegenwärtige Forschungsarbeiten konzentrieren sich darauf, Kulturbedingungen zu entwickeln, die die Differenzierung so steuern, dass nur ein Zelltyp entsteht und keine

[2] Insoweit im Folgenden beispielhaft wissenschaftliche Veröffentlichungen zitiert werden, sei darauf hingewiesen, dass grundsätzlich lediglich Originalpublikationen zitiert werden, die im Berichtszeitraum (1. Januar 2004 bis 31. Dezember 2005) veröffentlicht bzw. elektronisch vorveröffentlicht wurden.

[3] Da sich diese Arbeit auf den Berichtszeitraum bezieht, wird sie hier zitiert, obwohl sie erst 2006 veröffentlicht wurde.

undifferenzierten Zellen zurück bleiben. Denn Transplantate für den klinischen Einsatz am Menschen dürfen keine undifferenzierten humanen ES-Zellen mehr enthalten, da diese Tumore bilden können. Auch wenn die experimentellen Bedingungen auf eine gerichtete Entwicklung abzielen, sind neben dem gewünschten Zelltyp meist auch andere Zellen vorhanden. Um diese unerwünschten „Nebenprodukte“ sowie die undifferenzierten Zellen zu vermeiden, wird versucht, eine möglichst umfassende selektive und gerichtete Differenzierung durch die gezielte Aktivierung von spezifischen Entwicklungskontrollgenen (z. B. Transkriptionsfaktoren) oder Zugabe von Signalmolekülen (z. B. Faktor Wnt zur neuronalen Differenzierung) zu erreichen.

Die Funktionalität von differenzierten Zelltypen kann u. a. durch Transplantation in immundefiziente Mäuse und Mausmodelle von Krankheiten des Menschen überprüft werden.

Versuche zur Differenzierung von ES-Zellen werden oft zunächst mit Maus ES-Zellen durchgeführt und danach an menschlichen ES-Zellen überprüft. Es hat sich gezeigt, dass Ergebnisse mit tierischen ES-Zellen nicht uneingeschränkt auf humane Zellen übertragbar sind. Zum Beispiel unterscheiden sich die erforderlichen Kulturbedingungen sowie die zu bestimmten Zelltypen führenden Differenzierungsprotokolle z. T. erheblich.

2.2.3 Klinische Nutzung humaner embryonaler Stammzellen

Die Anwendung humaner ES-Zellen am Menschen wird zum gegenwärtigen Wissens- und Entwicklungsstand als risikobehaftet angesehen. Trotz des Tumorrisikos, der möglichen Kontamination mit tierischen Pathogenen und immunologischer Probleme plant die US Firma Geron eine erste klinische Studie mit aus humanen ES-Zellen abgeleiteten Nervenzellen zur Therapie von Rückenmarksverletzungen für das Jahr 2007. Die Firma Geron, die schon die Isolation der ersten humanen ES-Zellen finanziell unterstützt hat, diskutiert ein entsprechendes Gesuch mit der zuständigen US Food and Drug Administration (FDA). Als erste Studie weltweit mit humanen ES-Zellen hätte eine solche Studie Pilotcharakter, insbesondere in der Festlegung von Sicherheitsstandards für die Patienten.

2.2.4 Wirtschaftliche Nutzungsmöglichkeiten humaner embryonaler Stammzellen in der Toxikologie und Wirkstofffindung

Stammzellen können während des Prozesses der pharmazeutischen Medikamentenentwicklung nützlich sein, ohne selbst am Patienten angewandt zu werden. Sie eröffnen neue Möglichkeiten z. B. für die Entwicklung von Tests für die Wirksamkeit und Sicherheit von Medikamenten in der präklinischen Forschung sowie für die Entwicklung von Diagnose-Assays. Zum einen wird angestrebt, Tierversuche zu vermeiden, zum anderen die Patientensicherheit zu verbessern, denn der Einsatz humaner ES-Zellen und daraus differenzierten spezialisierten Zelltypen verspricht natürlichere Testbedingungen und relevantere Aussagen in der präklinischen Forschung. Die ProteoSys AG aus Mainz prüft z. B. mit Hilfe von humanen ES-Zellen Substanzen auf neurotoxische Effekte (siehe den zugehörigen Antrag Nr. 4 beim RKI). Die pharmazeutische Industrie setzt die neue Technik bereits vereinzelt ein, um neue Angriffspunkte (Targets) für Wirkstoffe zu definieren. Es wird erwartet, dass diese Methodik rascher zu anwendungsreifen Produkten führt als die Entwicklung von Zelltherapeutika für die Transplantation.[4]

2.2.5 Therapeutisches Klonen

Mit therapeutischem Klonen wird ein Verfahren zur Herstellung embryonaler Stammzellen durch Überführung des Zellkerns einer Körperzelle in eine entkernte Eizelle (Zellkerntransfer) bezeichnet. Im adulten Zellkern wird durch die neue Umgebung das embryonale Programm aktiviert und es entwickelt sich ein Zellverband, dessen Zellen mit denen des Zellkernspenders genetisch identisch sind. Das Verfahren des Zellkerntransfers als Grundlage für jegliches Klonen wurde bereits für verschiedene Tierarten erfolgreich angewandt. Versuche, geklonte menschliche Stammzelllinien zu erzeugen, waren jedoch bislang erfolglos.[5]

Mit den Forschungsarbeiten zum therapeutischen Klonen werden verschiedene Zielsetzungen verfolgt. Das Ziel von Versuchen mit geklonten menschlichen ES-Zellen ist zunächst die entwicklungsbiologische Grundlagenforschung. Daneben geht es um die Generierung patientenspezifischer Zellen. Patientenspezifische humane ES-Zellen wären geeignete Modelle zur Untersuchung der zellulären/genetischen Ursachen von Krankheiten (Ätiopathogeneseforschung), sowie zur Erprobung neuartiger Therapieverfahren wie z. B. der Gentherapie. So versucht man, Abstoßungsreaktionen zu vermeiden. Ebenfalls diskutiert wird die Möglichkeit, mit Zelllinien, die von Patienten mit genetischen Erkrankungen gewonnen wurden, Medikamente zu entwickeln. Derzeit sind in Europa u. a. die Arbeitsgruppen um Miodrag Stojkovic (Alicante, Spanien) und Ian Wilmut (Edinburgh) bekannt, die am therapeutischen Klonen von humanen ES-Zellen arbeiten.

Die im Jahre 2004 aus Korea berichtete, Aufsehen erregende Generierung humaner ES-Zellen nach Klonierung von humanen Embryonen sowie die 2005 vermeldete Effizienzsteigerung der Technologie unter Einsatz von Zellkernen aus Patienten haben sich inzwischen als gefälscht herausgestellt (Hwang et al., 2005, engl. Zusammenfassung des Untersuchungsberichtes der Universität Seoul zu den Fälschungsvorwürfen unter www.snu.ac.kr/engsnu).

Nach aktuellem Stand ist es möglich, nach dem Transfer somatischer humaner Zellkerne embryoartige Strukturen

[4] Solche Experimente sind in DE nach dem Stammzellgesetz zulässig, allerdings nur solange es sich noch um (hochrangige) Forschung und nicht schon um therapeutische oder kommerzielle Nutzung handelt und soweit der Stichtag bei ES-Zellen beachtet wurde.

[5] In Deutschland ist das Klonen nach § 6 des Embryonenschutzgesetzes unter Strafe verboten.

bis zum Stadium der Morula zu entwickeln, das spätere Stadium der Blastozyste (aus dem i. d. R. ES-Zellen gewonnen werden) wird jedoch nicht zuverlässig erreicht (Stojkovic et al., 2005). Die Untersuchungskommission, die die Experimente zu den gefälschten Publikationen aus Hwangs Arbeitsgruppe analysierte, bestätigte die Weiterentwicklung zur Blastozyste in einigen Fällen. Die Gewinnung von Stammzelllinien aus solchen geklonten Stadien ist nicht gelungen, die Ursachen hierfür sind unklar, werden aber eher im Technischen als im Grundsätzlichen vermutet (Stojkovic et al., 2005). Eine mögliche Lösung sehen manche in der Etablierung von ES-Zelllinien aus dem der Blastozyste vorhergehenden Morula-Stadium, wie sie ohne Klonierungsschritte schon gelungen ist (Strelchenko et al., 2004).

Krankheitsspezifische humane ES-Zellen wurden daher bisher ausschließlich aus für reproduktive Zwecke hergestellten IVF-Embryonen gewonnen (Verlinsky et al., 2005).

2.3 Stand der Forschungen mit menschlichen somatischen/adulten Stammzellen

2.3.1 Forschungsstand allgemein

Somatische/adulte Stammzellen können aus dem Körper erwachsener Tiere und des Menschen bzw. aus entsprechenden Föten gewonnen werden, auch im Nabelschnurblut von Neugeborenen finden sich somatische Stammzellen. Sie konnten in einer Vielzahl von Organen und Geweben nachgewiesen werden: z. B. Knochenmark, Gehirn, Epidermis, Blut, Leber, Haut, Auge, Darm, Bauchspeicheldrüse und Skelettmuskel. Das Spektrum erweitert sich kontinuierlich, so wurden im Berichtszeitraum z. B. Stammzellen der Retina sowie Melanozyten-Stammzellen entdeckt.[6]

Adulte Stammzellen sind undifferenzierte bzw. wenig differenzierte Zellen, die in ansonsten differenzierten Geweben oder Organen angesiedelt sind. Ihre Funktion im Körper ist spezifisch und beschränkt sich im natürlichen Prozess auf die Regeneration des Organs, in dem sie angesiedelt sind. So werden z. B. die Blutzellen permanent neu von speziellen Blutstammzellen aus dem Knochenmark gebildet, um abgestorbene Zellen zu ersetzen.

Ein wesentlicher Vorteil von somatischen/adulten Stammzellen für die Nutzung als Therapeutikum ist, dass diese Zellen z. B. bei Knochmarktransplantationen oder zur Hautregeneration aus dem jeweiligen Patienten selbst gewonnen werden können. Bei einer späteren autologen Transplantation wird im Gegensatz zum Einsatz fremder Zellen keine Immunantwort hervorgerufen. Somatische/adulte Stammzellen werden bereits erfolgreich zur Behandlung von Blutkrebserkrankungen und Immundefizienzen sowie mit Verfahren des Tissue-Engineering bei Hautschädigungen und Gelenkdegenerationen eingesetzt. Therapeutische Studien im Berichtszeitraum zeigen weitere Behandlungsperspektiven z. B. bei Herzinfarkt auf. Bei Geweben mit eingeschränktem Regenerationspotential (wie z. B. Nervensystem und Herz) wird für eine autologe therapeutische Nutzung an Alternativen z. B. unter Verwendung von Nabelschnurblut oder Knochenmarkszellen gearbeitet (s. im Einzelnen Kapitel 2.3.3. und 2.3.4.).

Ein zentrales zu lösendes Problem bei somatischen/adulten Stammzellen ist die Gewinnung und Vermehrung in therapeutisch relevanten Mengen. Somatische/adulte Stammzellen sind selten (so ist z. B. nur 1 von 10 000 bis 15 000 Zellen des Knochenmarks eine hämatopoetische Stammzelle) und in vitro nur begrenzt vermehrungsfähig. Schwierigkeiten bereitet insbesondere die Identifikation der Stammzellen sowie deren Abtrennung von anderen Zellen des jeweiligen Gewebes. Darüber hinaus wurden 2005 mehrere Studien publiziert die zeigten, dass auch bei somatischen/adulten Stammzellen, wie bei embryonalen Stammzellen, ein Krebsrisiko bestehen kann, z. B. wenn sie zu lange kultiviert werden (Rubio et al., 2005; Burns et al., 2005).

Eine weitere Herausforderung für die therapeutische Nutzung ist das eingeschränkte Differenzierungspotential somatischer/adulter Stammzellen. Diese können sich nach bisherigem Forschungsstand lediglich in Zellen einer bestimmten Entwicklungsrichtung, d. h. in Zellen ihres eigenen Gewebes entwickeln (z. B. blutbildende Stammzellen in Zellen des Blutes, mesenchymale Stammzellen in Zellen der mesenchymalen Linie wie Knorpel, Knochen, Sehnen, Fett, Skelettmuskelzellen). Doch stellt das Differenzierungspotential von gewebespezifischen Stammzellen, insbesondere Strategien zur Erweiterung des Entwicklungspotenzials, ein aktuelles Forschungsthema dar, dessen Wissensstand sich kontinuierlich erweitert.

2.3.2 Multipotente somatische Stammzellen

Ergebnisse aus dem Jahre 2002 legten nahe, dass durch in vitro-Kultivierung von Knochenmarkzellen aus Maus und Mensch adulte Stammzellen mit einem breiteren Entwicklungspotential gewonnen werden können (multipotent adult progenitor cells, MAPC). Zwar konnten einige der ursprünglichen Resultate durch andere Gruppen nicht reproduziert werden. In neueren Arbeiten wurden aber weitere Populationen der seltenen MAPC aus dem Knochenmark sowie dem Nabelschnurblut isoliert (Muguruma et al., 2003; Kögler et al., 2004). Eine Differenzierung dieser somatischen Stammzellen in Zellen der drei Keimblätter wurde berichtet. Die MAPC konnten über eine große Anzahl von Generationen ohne Anzeichen von Seneszenz (Alterungsprozesse) oder Verlust der Multi-

[6] Einen Sonderfall stellen die aus Föten nach Spontanabort bzw. nach Schwangerschaftsabbruch stammenden primordialen Stammzellen der Keimbahn dar (auch „embryonic germ cells“ – EG-Zellen genannt), die bei geeigneten Kulturbedingungen ebenfalls ein hohes Entwicklungspotenzial besitzen. Diese Zellen sind per Definition nicht somatisch. Da sie jedoch aus deutlich späteren Entwicklungsstadien gewonnen werden als die Blastozyste, aus der humane ES-Zellen etabliert werden, sind sie hier mit aufgeführt (vgl. i. Ü. unter Ziff. 2.4). Humane Keimbahnstammzellen sind ebenfalls pluripotent, jedoch ist ihre Proliferationsfähigkeit begrenzt. Ihre Kultivierung hat sich als sehr mühselig herausgestellt, so dass sie fast nicht mehr verwendet werden, wie sich an der geringen Zahl der Publikationen zeigt.

potenz vermehrt werden (D'Ippopito et al., 2004). Diese MAPC exprimieren einige der von embryonalen Stammzellen bekannten Pluripotenzmarker, ohne dass sie jedoch die Proliferations- und Entwicklungsfähigkeit embryonaler Stammzellen erreichen.

Gegenwärtig werden die folgenden Mechanismen diskutiert, die eine „Transdifferenzierung" adulter Stammzellen erklären können:

– Es wird für denkbar gehalten, dass durch den Transfer von somatischen Stammzellen in eine neue Umgebung in vivo, aber insbesondere unter Kulturbedingungen (in vitro), eine Reprogrammierung der adulten Stammzellen in neue Entwicklungsrichtungen möglich ist. Bei diesen voraussichtlich sehr seltenen Ereignissen sind Faktoren in der Umgebung der Zellen beteiligt (die sog. Stammzellnische).

– Auch beruht die angenommene Differenzierung adulter Stammzellen in verschiedene Zelltypen nicht notwendigerweise auf einer eigenständigen Differenzierung der Stammzellen, sondern auf der Fusion der Stammzellen mit vorhandenen differenzierten Zellen des Zielgewebes. Dies täuschte Plastizität der Stammzellen dann nur vor. Ein solcher Mechanismus der Zellfusion wurde z. B. in Experimenten gezeigt, in denen Stammzellen mit Leberzellen oder Zellen des Herzens verschmolzen (Willenbring et al., 2004; Zhabg et al., 2004). Inwieweit dieser Mechanismus z. B. in der Leber ein natürlicher Vorgang der Geweberegeneration ist oder aber ein Artefakt, der die klinische Anwendung gefährdet, ist augenblicklich Gegenstand der Diskussion und Forschung. Auch ist nicht bekannt, ob solche „transdifferenzierten" Zellen die vermeintlichen Funktionen tatsächlich übernehmen konnten.

2.3.3 Klinische Studien mit somatischen Stammzellen aus Nabelschnurblut

Somatische Stammzellen werden auch aus Nabelschnurblut gewonnen, in Blutbanken gelagert und therapeutisch eingesetzt. Seit 1988 wurden erfolgreiche allogene Transplantationen zur diversen genetischen Erkrankungen, Blutkrebserkrankungen und Immundefizienzen durchgeführt. Die transplantierten Stammzellen besiedeln das Knochenmark des Patienten und dienen dort als Quelle für Blutzellen. Ihr Einsatz in allogenen Tranplantationen steigt und Nabelschnurblut wird zunehmend zu einer Alternative zur Knochenmarkstransplantation. Die autologe Verwendung von SZ aus Nabelschnurblut wird allerdings bislang zurückhaltend bewertet.

In klinischen Therapiestudien zur Krabbeschen Erkrankung wurden Stammzellen aus der Nabelschnur von gesunden, mit dem Patienten nicht verwandten Säuglingen zur Therapie von Erbträgern eingesetzt und damit die Ausbildung der Krankheitssymptome verhindert. Die Krabbesche Erkrankung ist ein erbliches Nervenleiden, das unbehandelt in früher Kindheit zum Tod führt. Krankheitsursache ist der Defekt des Enzyms Galactocerebrosidase, das unter anderem für die Myelinbildung der Nerven benötigt wird. Im vorliegenden Fall wurden Blutstammzellen der Patienten durch Chemotherapie abgetötet und durch entsprechende Zellen aus dem Nabelschnurblut von gesunden Säuglingen ersetzt. Die Stammzellen regenerierten das blutbildende System. In der Folge normalisierten sich die Enzymwerte des Blutes ebenso wie die Myelinisierung der Hirnnervenzellen (Escolar et al., 2005).[7]

2.3.4 Klinische Studien mit autologen Stammzellen nach Herzinfarkt

Adulte Stammzellen aus dem Knochenmark wurden in jüngerer Zeit in individuellen Heilversuchen, in klinischen Studien und in Multizentrenstudien zur Behandlung von Herzinfarkt eingesetzt. Durch den Verschluss von Blutgefäßen stirbt nach einem Herzinfarkt Gewebe des Herzmuskels ab. Da der Herzmuskel aller Wahrscheinlichkeit nach keine eigene Regenerationsfähigkeit besitzt, sind die so entstandenen Schäden dauerhaft und führen zu chronischen Funktionseinschränkungen. Ersatz der abgestorbenen Herzmuskelzellen ist das Ziel der Therapie.

Erste klinische Studien zur Therapie von Herzinfarkt beim Menschen, die in Deutschland zuerst eingeführt wurden, zeigten vielversprechende Ergebnisse: die Transplantation von Stammzellen resultierte in einer vorübergehenden Erhöhung der Pumpleistung des Herzens. Auch die erste weltweite prospektive Doppelblindstudie an 200 Herzinfarktpatienten bestätigte diese Resultate (Schächinger et al., 2006). Eine Studie mit mehr als 1 000 Patienten soll diese Ergebnisse nun verifizieren. Andere Studien in Belgien und Norwegen konnten diese Ergebnisse allerdings nicht bestätigen, so dass grundsätzlich diskutiert wird, ob die klinischen Verbesserungen auf spezifische Details der Gewinnung und Handhabung der Zellen zurückzuführen sind (siehe unten). Die Voraussetzungen für einen Therapieerfolg sind noch nicht abschließend geklärt. Faktoren wie Behandlungszeit nach dem Infarkt, Art und Anzahl der transplantierten Zellen, Ort und Art der Applikation sind offenbar wesentliche Faktoren.

Insbesondere ist der Wirkmechanismus der transplantierten somatischen Stammzellen unklar. Neben einer Neubildung von Kapillaren wird z. T. eine Funktionsverbesserung des geschädigten Muskels beobachtet. Die transplantierten somatischen Stammzellen sind aber nicht selbst an der Bildung von neuem Muskelgewebe beteiligt, da keine Entwicklung in neue Herzzellen stattfindet. Möglicherweise scheiden die transplantierten Knochenmarkzellen, nachdem sie in die Defektstelle gewandert sind, Faktoren aus, die das Überleben benachbarter Zellen ermöglichen, die anderenfalls absterben würden. Auch könnten regenerationsfördernde Faktoren sezerniert werden, die das endogene Regenerationspotential aktivieren.

---

[7] In der Laienpresse wurde der Fall einer englischen Familie diskutiert, die durch Präimplantationsdiagnostik eines in vitro gezeugten Embryos dasjenige Geschwister auswählte, das als Stammzellspender für das bereits geborene kranke Kind in Frage kam. In Deutschland ist Präimplantationsdiagnostik nach dem Embryonenschutzgesetz verboten.

So regen z. B. der Stem-Cell-Factor (SCF) und der Granulocyte-Colony-Stimulating-Factor (G-CSF) das Einwandern von im Blut zirkulierenden autologen Stammzellen in das geschädigte Gewebe an. Diese Aktivierung des endogen vorhandenen Regenerationspotenzials durch vorhandene eigene Stammzellen könnte einige Befunde über die Transdifferenzierungsfähigkeit von somatischen Stammzellen erklären und stellt ein alternatives Therapieprinzip für die regenerative Medizin dar.

2.3.5 Regenerative Medizin, Tissue Engineering

Stammzellen haben eine zentrale Bedeutung für die regenerative Medizin und das Tissue Engineering. Die regenerative Medizin umschreibt die Entwicklung und Anwendung medizinischer Therapien mit dem Ziel, erkrankte Gewebe zu heilen, teilweise zu rekonstruieren oder die Regeneration von kranken und verletzten Organen zu unterstützen. Als Tissue Engineering wird die extrakorporale Züchtung von zumeist patientenspezifischen Geweben bezeichnet, die dabei häufig auf künstlichen Biomatrices heranwachsen, die die erforderliche Form gewährleisten. Bei diesen Verfahren wird in der Regel auf organspezifische, bereits weitgehend ausdifferenzierte Stammzellen zurückgegriffen, die aus dem jeweiligen Gewebe stammen. Die Stammzellen werden in größerer Zahl zunächst in Kultur gezüchtet, bevor sie in den gewünschten therapeutischen Gewebetyp verwandelt werden. Somit ist eine Reprogrammierung dieser Zellen nicht erforderlich, weshalb die Anwendungen in der klinischen Praxis im Vergleich zum Einsatz von weniger differenzierten SZ bereits deutlich weiter fortgeschritten sind. Klinisch einsetzbare Verfahren gibt es zum einen für den Hautersatz, der unter anderem bereits mit Erfolg bei der Behandlung von Verbrennungsopfern eingesetzt wird. Weiterhin werden biologisch regenerierter Knochen- und Knorpelersatz klinisch erprobt bzw. angewendet (z. B. Gesichtschirurgie). So wird z. B. Knorpelgewebe aus körpereigenen Vorläuferzellen gezüchtet und dann zur Behandlung von Verletzungen und Arthrose eingesetzt.

Eine Behandlung von Patienten mit patienteneigenem Material mit Hilfe des Tissue Engineering ist jedoch nur möglich, wenn noch genügend gesundes Ausgangsgewebe (z. B. intakte Haut bei Verbrennungen) vorhanden ist, bzw. wenn die Ausgangszellen nicht selbst durch eine Mutation krankhaft verändert sind. Auch sind bestimmte Organe, wie z. B. das Gehirn, problematischer als andere in Bezug auf den Erhalt der extrakorporal zu vermehrenden Zellen.

2.4 Besondere Erkenntnisse der Forschungen mit tierischen Stammzellen

2.4.1 Forschungsstand allgemein

Arbeiten mit menschlichen Stammzellen basieren in der Regel auf Experimenten mit somatischen und embryonalen Stammzellen der Maus. Auch bedient sich die Wissenschaft zur experimentellen Untersuchung humaner Krankheitsbilder (z. B. Herzinfarkt, Morbus Parkinson, Rückenmarksverletzungen, Diabetes mellitus, multiple Sklerose) oft der Tiermodelle. Bei solchen in-vivo-Tierexperimenten mit Ratten konnten nach Rückenmarksläsionen sowie nach Schlaganfall positive Effekte einer Stammzelltherapie nachgewiesen werden, Reaktions- und Bewegungsfähigkeit wurden zurückgewonnen. Auch in Tiermodellen für Multiple-Sklerose und Diabetes mellitus besserte sich der Zustand nach dem Einsatz von Stammzellen. Zudem wurden in den Herzen von Mäusen und Ratten Stammzellen entdeckt, die möglicherweise neben Endothelzellen auch Herzmuskelzellen bilden können.

2.4.2 Embryonale, fetale und adulte Keimbahnstammzellen:

Neben den ES-Zellen können auch embryonale Keimbahnstammzellen in vitro kultiviert werden. Sie besitzen ebenfalls die Fähigkeit, sich in zahlreiche Zelltypen des Organismus zu differenzieren. Bis vor kurzem schien ihr Vorkommen jedoch auf pränatale Entwicklungsstadien beschränkt. Von Bedeutung sind daher Forschungsergebnisse an der Maus, die die Persistenz von embryonalen Keimbahnstammzellen im neonatalen Gewebe demonstrieren und die Generierung einer ES-Zell-ähnlichen, pluripotenten Stammzelllinie aus dem Hoden neonataler Mäuse zeigen (Kanatsu-Shinohara et al., 2004).

Während sich embryonale Keimbahnstammzellen sowohl in Keimzellen als auch in die Zellen der verschiedenen Keimblätter entwickeln können, vermögen Keimbahnvorläuferzellen des erwachsenen Menschen lediglich Keimzellen zu generieren. Ihr Vorkommen schien zudem bisher auf das männliche Geschlecht beschränkt zu sein, da es als erwiesen erachtet wurde, dass der Vorrat an weiblichen Keimzellen ausschließlich während der fetalen Entwicklung angelegt wird. Kürzlich jedoch wurden im Knochenmark von Mäusen Stammzellen gefunden, welche typisch für die Vorläufer der weiblichen Keimbahnzellen sind. Es konnte gezeigt werden, dass diese Keimbahnvorläuferzellen in die Ovarien einwandern und hier neue Eifollikel regenerieren. Es wird angenommen, dass diese Follikelregeneration durch einwandernde Stammzellen maßgeblich für den Erhalt der Fertilität in der reproduktiven Lebensspanne der Maus ist (Johnson et al., 2005). Falls sich diese Ergebnisse auf den Menschen übertragen lassen, würde dies Hoffnungen für die Reproduktionsmedizin bedeuten, aber auch möglicherweise unerwünschte Nebenwirkungen für Knochenmarkstransplantationen hervorrufen.

2.5 Offene Fragen bei der Erforschung von Stammzellen

An der Beantwortung der im 1. Bericht genannten offenen Fragen (Immunologie, Tumorbildung, Pathogenität, Transdifferenzierung, Zellfusion, Reproduzierbarkeit) wird auch zum gegenwärtigen Zeitpunkt intensiv gearbeitet. Zusätzlich rücken Fragen nach dem Einfluss der Mikroumgebung der Stammzelle für Ihre Funktion (Stammzellnische) und die Entwicklung von alternativen Verfahren

zur Herstellung pluripotenter Stammzellen in den Fokus der Stammzellforschung.

2.5.1 Immunologie: Wie lassen sich Abstoßungsreaktionen bei Transplantationen vermeiden?

Humane ES-Zellen sind genetisch identisch mit dem Embryo, aus dem sie gewonnen wurden, und würden daher bei Transplantation in einen anderen Patienten Immunreaktionen hervorrufen, wie sie auch bei anderen Organtransplantationen auftreten und mit Immunsuppressiva kontrolliert werden müssen.

Eine Möglichkeit, Abstoßungsreaktionen bei der Übertragung von humanen ES-Zellen bei therapeutischer Anwendung zu vermeiden, wird in der Sammlung verschiedener humaner ES-Zellkulturen gesehen, die einen Abgleich ihrer Zelloberflächenmarker mit denen potentieller Transplantatempfänger ermöglichen soll. Schätzungen gehen davon aus, dass zwischen hundert bis mehreren hundert humane ES-Zelllinien benötigt würden, um passende Zellen für einen Großteil der Bevölkerung verfügbar zu haben. Eine derartige Stammzellbank wird z. B. in England aufgebaut.

Neben der gentechnologischen Verminderung der Immunogenität des transplantierten Gewebes bzw. Organs und der Dämpfung der Immunantwort des Empfängers sei hier auf das therapeutische Klonen verwiesen, auf das in Kapitel 2.2 näher eingegangen wird.

2.5.2 Stammzellnische: Wie wird die Entwicklungsrichtung von Stammzellen reguliert bzw. wie lässt sie sich regulieren?

Neben verschiedenen für die Differenzierungsrichtung maßgeblichen Wachstumsfaktoren erhält der zelluläre Kontext, in dem die Stammzelle steht, die Mikroumgebung oder sogenannte „Nische“, eine zunehmende Bedeutung. Die Mikroumgebung ist bei ES-Zellen, die normalerweise nur gleiche Zellnachbarn haben, am einfachsten aufgebaut und erleichtert reine Kulturen. Sobald jedoch verschiedene Zelltypen vorkommen, variiert die Mikroumgebung der Stammzellen, was unterschiedliche Differenzierungsrichtungen zulässt. Dieser Umstand erschwert den Erhalt reiner Zellpopulationen. Zudem können Veränderungen der Mikroumgebung mit dem Verlust der Stammzelleigenschaften und möglicher kanzerogener Entartung zusammen hängen, wie es im Dickdarmepithel nachgewiesen wurde.

2.5.3 Standardisierung: Warum sind die erhaltenen Ergebnisse oft schwer zu reproduzieren und manchmal widersprüchlich?

Die Stammzellforschung ist ein relativ junges und sich sehr rasch entwickelndes Gebiet, so dass für viele Methoden, Techniken und Prozeduren noch keine standardisierten Verfahren existieren. Entsprechend gibt es oft Schwierigkeiten, Ergebnisse zu reproduzieren, da schon geringste Abweichungen eines Versuchsablaufs den resultierenden Zelltyp verändern können. Aktuell werden acht Faktoren (z. B. Verletzungen, Zelltyp, Transplantationszeitpunkt, Einfluss von Bestrahlung, Transplantationsmethode, Zellzahl, Entwicklungszustand und potentielle Mobilisierung endogener Stammzellen) diskutiert, die die Resultate der Transplantationsversuche mit Stammzellen beeinflussen können. Dementsprechend dienen die erwähnten Stammzellbanken auch dazu, nach qualitätsgesicherten standardisierten Verfahren etablierte und charakterisierte Stammzellen als vergleichbares Ausgangsmaterial für die Forschung zur Verfügung zu haben.

2.5.4 Alternative Verfahren zur Gewinnung pluripotenter Stammzellen

Die Gewinnung pluripotenter humaner ES-Zellen beinhaltet die Zerstörung eines menschlichen Embryos. Es werden daher verschiedene alternative Verfahren erforscht, um Zellen mit äquivalentem Potenzial ohne die Zerstörung eines Embryos zu gewinnen. Ein besonderes Augenmerk wird dabei auf die Problemfelder einer möglichen Totipotenz der Zellverbände[8] und des hohen Bedarfs an Eizellen bei einigen Verfahren gerichtet. Die Etablierung dieser Verfahren erfolgt in der Regel an tierischen Modellen.

An Maus-Embryonen wurde gezeigt, dass es technisch möglich ist, aus einem frühen Embryonalstadium analog der Präimplantationsdiagnostik einzelne Zellen zu entnehmen und weiterhin zu kultivieren, um daraus letztlich Stammzellen zu gewinnen.[9] Der Ausgangsembryo bleibt trotz dieses Eingriffs voll entwicklungsfähig (Chung et al., 2006).

Andere Verfahren haben eine Dedifferenzierung somatischer Zellen zu Stammzellen zum Ziel. Dies ist z. B. durch den Transfer eines somatischen Zellkerns in eine entkernte Eizelle möglich (sog. therapeutisches Klonen). Das therapeutische Klonen ist in Deutschland nach dem Embryonenschutzgesetz verboten.

Gegenwärtig werden alternative Strategien erforscht, um bei der Methode des Zellkerntransfers das Auftreten von totipotenten Zellstadien zu vermeiden. Hier sind zunächst Klonierungsexperimente mit Mäusen zu nennen, bei denen ES-Zellen generiert wurden, ohne das Stadium der Totipotenz zu durchlaufen. Dazu war der adulte Spenderkern transient mit einer genetischen Markierung (Cdx2 Gen) versehen worden, die verhindert, dass sich eine entwicklungsfähige Blastozyste mit Trophoblast bildet, der für die Einnistung in die Gebärmutter und die Bildung der Plazenta erforderlich ist. Somit gab es bei diesem Experiment zu keinem Zeitpunkt ein Stadium, aus dem sich ein komplettes tierisches Individuum entwickeln konnte (Meissner

---

8 Nach Embryonenschutz- und Stammzellgesetz gilt in Deutschland bereits jede totipotente menschliche Zelle, die sich bei Vorliegen der dafür erforderlichen Voraussetzungen zu teilen und zu einem Individuum zu entwickeln vermag, als Embryo.

9 Die Präimplantationsdiagnostik, sowie jegliche Verwendung eines humanen Embryos zu einem nicht seiner Erhaltung dienenden Zweck, ist nach dem Embryonenschutzgesetz verboten.

& Jaenisch, 2006). Aus der modifizierten Blastozyste konnten pluripotente ES-Zellen gewonnen werden.

2005 konnte zudem gezeigt werden, dass Dedifferenzierung somatischer Zellkerne (in diesem Fall aus der Haut) nicht nur bei der Fusion mit einer entkernten Eizelle erfolgt, sondern auch bei der Fusion mit humanen ES-Zellen. Die resultierenden Zellen besitzen Eigenschaften und Potential von ES-Zellen, jedoch einen vierfachen Chromosomensatz (Cowan et al., 2005). Um diesen zu vermeiden, wurde eine Methode etabliert, bei der die Fusion eines somatischen Zellkerns mit einer entkernten humanen ES-Zelle erfolgt. Dieses Verfahren ist zur Patentierung eingereicht. Solche Verfahren könnten die problematische Gewinnung von Oozyten von weiblichen Spendern entbehrlich machen, die für Verfahren des Zellkerntransfers („therapeutisches Klonen“) ansonsten in hohen Mengen erforderlich wären.

Eine weitere Möglichkeit zur Vermeidung von Eizellspenden liegt in der Differenzierung von Eizellen in Gewebekultur. Es ist seit kurzem bekannt, dass Eizellen und Spermatiden aus ES-Zellen der Maus in Gewebekultur gewonnen werden können (Hübner et al., 2003; vgl. auch 1. Stammzellbericht, Ziff. 2.5). Die Keimzellen stellen im Vergleich zu allen anderen Körperzellen eine Besonderheit dar, da zu ihrer Bildung der normale Chromosomensatz im Prozess der Reifeteilung halbiert werden muss, dies ist ein komplexer Prozess. Die Erzeugung dieser speziellen Zelltypen belegt erneut das hohe Differenzierungspotenzial von ES-Zellen. Die in vitro erzeugten Spermatiden der Maus waren in der Lage, Eizellen nach Injektion zu befruchten und eine Entwicklung auszulösen. Die Entwicklung ging aber nicht über die frühen Stadien hinaus. Es ist zur Zeit noch unklar, ob die in vitro differenzierten Eizellen der Maus voll funktionsfähig sind. Die Übertragbarkeit dieser Technik auf den Menschen ist nach derzeitigen Stand der Forschung noch offen. Vorläufigen Berichten zufolge lassen sich auch aus humanen ES-Zellen, die in der Lage waren, sich zu Primordialzellen zu differenzieren, Eizell-ähnliche Stadien generieren.

Darüber hinaus wurden Experimente publiziert, bei denen menschliche somatische Zellkerne in entkernte tierische Eizellen transferiert wurden (Jiang et al., 2005). Als problematisch kann hierbei angesehen werden, dass die resultierenden Zellgebilde noch tierische Zellorganellen enthalten. Da die Zellorganellen allerdings auf Bauanleitungen aus dem menschlichen Zellkern angewiesen sind und mit den menschlichen Bauanleitungen nicht kompatibel sind, werden die tierischen Organellen durch die Organellen verdrängt, die mit dem menschlichen Zellkern eingebracht werden.

Zusammenfassend ist einzuschätzen, dass sich alle diese alternativen Verfahren der Eizellgewinnung bzw. der Reprogrammierung von somatischen Zellen noch im experimentellen Stadium befinden. Von einer Übertragung der Techniken auf den Menschen ist die Wissenschaft derzeit noch weit entfernt.

3. Schlussfolgerungen zum Stand der Forschung mit Stammzellen

Wie bereits im ersten Bericht dargelegt, bewegt sich die Stammzellforschung noch überwiegend im Bereich der Grundlagenforschung. Vor einer routinemäßigen Übertragung der Erkenntnisse auf den Menschen müssen noch zahlreiche grundlegende Fragen der Entwicklungsbiologie und Zelldifferenzierung beantwortet werden. Zur Klärung dieser Fragen kann gerade die Forschung mit humanen ES-Zellen einen wichtigen Beitrag leisten, zumal auch die an tierischen Stammzellen gewonnenen Erkenntnisse vor ihrer Anwendung am Menschen mit Hilfe humaner Stammzellen auf ihre Übertragbarkeit geprüft werden müssen.

In der Forschung werden gegenwärtig sowohl mit embryonalen als auch mit somatischen Stammzellen neue und wichtige Erkenntnisse gewonnen. Dabei ergänzen sich beide Zelltypen als Untersuchungsmaterial gegenseitig, denn je nach Fragestellung (Untersuchung der Selbsterneuerung, Proliferation, Einfluss von Wachstumsfaktoren und Hormonen, Steuerung der Differenzierung etc.) sind die Zellen unterschiedlich geeignet. Somit führen die jeweiligen Forschungsergebnisse zu einer gegenseitigen Befruchtung und tragen so insgesamt zu einer Weiterentwicklung dieses wichtigen Forschungsgebietes bei.

Es ist gegenwärtig noch nicht abzusehen, inwieweit bei einer späteren medizinischen Anwendung humaner Stammzellen auf die Verwendung von embryonalen Stammzellen verzichtet werden kann. Dafür wäre u. a. die genaue Abklärung des Differenzierungspotenzials und der möglichen Transdifferenzierung von somatischen Stammzellen erforderlich. Auch aus diesem Grund kann gegenwärtig nicht auf die parallele und vergleichende Forschung mit humanen ES-Zellen verzichtet werden.

Durch das Stammzellgesetz wurde die Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen in Deutschland ermöglicht, ohne den Schutz menschlicher Embryonen nach dem Embryonenschutzgesetz einzuschränken. Die Gewinnung von humanen ES-Zellen aus menschlichen Embryonen ist bereits durch das Embryonenschutzgesetz verboten. Die seit Inkrafttreten des Stammzellgesetzes genehmigten 14 Anträge (Ende 2005) auf Einfuhr und Verwendung von humanen ES-Zellen zu Forschungszwecken zeigen, dass die durch das Stammzellgesetz eröffneten Möglichkeiten wahrgenommen werden. Die aufgrund des Stammzellgesetzes verfügbaren humanen ES-Zellen, die vor dem Stichtag 1. Januar 2002 gewonnen worden sein müssen, ermöglichen Grundlagenforschung, sind jedoch aus den zuvor näher erläuterten Gründen (Immunogenität, möglicher Virenkontamination sowie der mit der Kulturdauer einhergehenden genetischen Veränderungen) für einen therapeutischen Einsatz am Menschen nicht geeignet. Zudem ist zu berücksichtigen, dass sich bestimmte Möglichkeiten der Grundlagenforschung, wie z. B. die Verwendung humaner ES-Zelllinien mit genuinen genetischen Schädigun-

gen zur Erforschung der Pathologie und Zellphysiologie erblich bedingter Krankheiten erst ergeben haben, seit neue, krankheitsspezifische humane ES-Zellen zur Verfügung stehen. Die wissenschaftlichen Entwicklungen zeigen aus Sicht der Anwender darüber hinaus Perspektiven für eine über die Verwendung zu Forschungszwecken hinausgehende Nutzung von humanen ES-Zellen, die z. B. zu Zwecken der Arzneimittelentwicklung oder in Bioreaktoren eingesetzt werden.

Die gesetzlichen Regelungen über die Einfuhr und Verwendung von humanen ES-Zellen zu Forschungszwecken, das Genehmigungsverfahren und die Einbeziehung einer Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung haben sich bewährt. Die Stellungnahme der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung zu jedem Antrag hat sich als ein wichtiger Beitrag für die sachgerechte Entscheidungsfindung der Genehmigungsbehörde erwiesen.

Glossar

Allogen: Das zu transplantierende biologische Material wird von einem Donor auf einen genetisch nicht identischen Empfänger übertragen, woraus immunologische Abwehrreaktionen resultieren.

Autolog: Das zu transplantierende biologische Material stammt vom Empfänger selbst, ist genetisch identisch, und ist daher immunologisch kompatibel.

Blastozyste: Frühes Embryonalstadium, das beim Menschen etwa den Zeitraum vom vierten bis siebten Tag nach der Befruchtung umfasst. Die Blastozyste ist bereits in eine innere Zellmasse (Embryoblast), aus der embryonale Stammzellen gewonnen werden können, und eine äußere Zellschicht (Trophoblast) differenziert.

Differenzierung: Prozess, bei dem durch Aktivierung genetischer Programme immer spezialisiertere Zellformen entstehen.

Eifollikel: Kugelige Eibläschen bestehend aus einem zeitweise mehrschichtigen Epithel und der innenliegenden Eizelle. Verschiedene Stadien der Follikelentwicklung werden bei der Reifung von Eizellen durchlaufen.

Embryoblast: Die innere Zellmasse der Blastozyste.

In vitro: Experimente, die außerhalb des lebenden Organismus, z. B. in Zellkulturen durchgeführt werden.

In vivo: Experimente, die am lebenden Organismus durchgeführt werden, z. B. Tierexperimente zur Untersuchung der Entwicklungs- und Regenerationsfähigkeit von Stammzellen.

Keimblätter: Dreidimensionale Zellkonglomerate in der frühen Embryonalentwicklung, die den Ursprung für definierte, in späteren Entwicklungsphasen gebildete Gewebe und Organsysteme darstellen, unterschieden nach:

- **Mesoderm:** Aus dieser Zellschicht entstehen unter anderem Blut, Herz, Muskulatur und Skelett.
- **Ektoderm:** Keimblatt, aus dem sich Haut und Nervensystem entwickeln.
- **Entoderm:** Zellen, aus denen neben dem Verdauungstrakt auch Leber und Bauchspeicheldrüse entstehen.

Potenzial: Entwicklungsmöglichkeiten einer Zelle, unterschieden nach:

- **totipotent (omnipotent):** Aus der Zelle kann sich ein vollständiges Lebewesen entwickeln (bei menschlichen Embryonen nach derzeitigem Kenntnisstand jede Zelle bis längstens zum Achtzellstadium).
- **pluripotent:** Aus der Zelle kann sich jeder Zelltyp des Organismus' entwickeln, jedoch kein vollständiges Lebewesen. Embryonale Stammzellen können die dafür erforderliche Plazenta, die aus dem Trophoblast der Blastozyste entsteht, nicht bilden und sind daher pluripotent.
- **multipotent:** Das Entwicklungspotenzial der Zelle beschränkt sich z. B. auf nur einige Zelltypen, die z. B. aus einem der Keimblätter hervorgehen.

Proliferation: Zellteilung zur Vermehrung von Geweben bei Wundheilung und Regeneration und zum Ersatz verbrauchter Zellen

Stammzelle: Zelle, die sich vermehren und in mehrere Zelltypen ausdifferenzieren kann, unterschieden nach:

- **embryonal:** Diese Stammzellen bilden die innere Zellmasse (Embryoblast) der Blastozyste.
- **somatisch/adult:** Stammzellen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) und geborenen Lebewesen (z. T. wird auch zwischen embryonalen, fötalen und adulten/somatischen SZ unterschieden).

Transdifferenzierung: Entwicklung einer Zelle zu einem Zelltyp, der nicht zum bisherigen Entwicklungsspektrum dieser Zelle gehört.

Trophoblast: Die äußere Zellschicht der Blastozyste.

Referenzen

Burns JS, Basem MA, Guldberg P, Rygaard J, Schrøder HD, Kassem M: Tumorigenic Heterogeneity in Cancer Stem Cells Evolved from Long-term Cultures of Telomerase-Immortalized Human Mesenchymal Stem Cells. Cancer Research. 2005; 65: 3126-3135.

Chung Y, Klimanskaya I, Becker S, Marh J, Lu SJ, Johnson J, Meisner L, Lanza R: Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres. Nature. 2006; 439: 216-9. Epub 2005 Oct 16.

Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL, Rando TA: Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. Nature. 2005; 433: 760-4.

Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K: Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. Science. 2005; 309: 1369-73.

D'Ippolito G, Diabira S, Howard GA, Menei P, Roos BA, Schiller PC: Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. J Cell Sci. 2004;117: 2971-81.

Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, Richards KC, Allison J, Wood S, Wenger DA, Pietryga D, Wall D, Champagne M, Morse R, Krivit W, Kurtzberg J: Transplantation of umbilical-cord blood in babies with infantile Krabbe's disease. N Engl J Med. 2005; 352: 2069-81.

Guhr A, Kurtz A, Friedgen K, Löser P: Current State of Human Embryonic Stem Cell Research: An Overview of Cell Lines and their Usage in Experimental Work. Stem Cells, online publiziert 15.06.2006.

Hübner K, Fuhrmann G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, Wood J, Strauss JF 3rd, Boiani M, Schöler HR: Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. *Science*. 2003; 200: 1251-56.

Hwang WS, Roh SI, Lee BC, Kang SK, Kwon DK, Kim S, Kim SJ, Park SW, Kwon HS, Lee CK, Lee JB, Kim JM, Ahn C, Paek SH, Chang SS, Koo JJ, Yoon HS, Hwang JH, Hwang YY, Park YS, Oh SK, Kim HS, Park JH, Moon SY, Schatten G: Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Science*. 2005; 308: 1777-83. Erratum in: Science. 2005; 310: 1769.

Jiang Y, Chen T, Nan CL, Ouyang YC, Sun QY, Chen DY: In vitro culture and mtDNA fate of ibex-rabbit nuclear transfer embryos. *Zygote*. 2005; 13: 233-40.

Johnson J, Bagley J, Skaznik-Wikiel M, Lee HJ, Adams GB, Niikura Y, Tschudy KS, Tilly JC, Cortes ML, Forkert R, Spitzer T, Iacomini J, Scadden DT, Tilly JL: Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell*. 2005; 122: 303-15.

Kanatsu-Shinohara M, Inoue K, Lee J, Yoshimoto M, Ogonuki N, Miki H, Baba S, Kato T, Kazuki Y, Toyokuni S, Toyoshima M, Niwa O, Oshimura M, Heike T, Nakahata T, Ishino F, Ogura A, Shinohara T: Generation of pluripotent stem cells from neonatal mouse testis. *Cell*. 2004; 119: 1001-12.

Klimanskaya I, Chung Y, Meisner L, Johnson J, West MD, Lanza R: Human embryonic stem cells derived without feeder cells. *Lancet*. 2005; 365: 1636-41.

Kögler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Muschen M, Feldhahn N, Liedtke S, Sorg RV, Fischer J, Rosenbaum C, Greschat S, Knipper A, Bender J, Degistirici O, Gao J, Caplan AI, Colletti EJ, Almeida-Porada G, Muller HW, Zanjani E, Wernet P: A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med.* 2004; 200(2): 123-35.

Ludwig TE, Levenstein ME, Jones JM, Berggren WT, Mitchen ER, Frane JL, Crandall LJ, Daigh CA, Conard KR, Piekarczyk MS, Llanas RA, Thomson JA: Derivation of human embryonic stem cells in defined conditions. *Nat Biotechnol*. 2006; [Epub ahead of print]

Martin MJ, Muotri A, Gage F, Varki A: Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. *Nat Med*. 2005; 11: 228-32.

Meissner A, Jaenisch R: Generation of nuclear transfer-derived pluripotent ES cells from cloned Cdx2-deficient blastocysts. *Nature*. 2006; 439: 212-5. Epub 2005 Oct 16.

Muguruma Y, Reyes M, Nakamura Y, Sato T, Matsuzawa H, Miyatake H, Akatsuka A, Itoh J, Yahata T, Ando K, Kato S, Hotta T: In vivo and in vitro differentiation of myocytes from human bone marrow-derived multipotent progenitor cells. *Exp Hematol.* 2003; 31: 1323-30.

Rubio D, Garcia-Castro J, Martin MC, de la Fuente R, Cigudosa JC, Lloyd AC, Bernad A: Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res.*, 2005; 65: 3035-3039.

Schachinger V, Tonn T, Dimmler S, Zeiher AM: Bone-marrow-derived progenitor cell therapy in need of proof of concept: design of the REPAIR-AMI trial. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006; 3: Suppl 1: S23-S28.

Stojkovic M, Stojkovic P, Leary C, Hall VJ, Armstrong L, Herbert M, Nesbitt M, Lako M, Murdoch A: Derivation of a human blastocyst after heterologous nuclear transfer to donated oocytes. *Reprod Biomed Online*. 2005; 11: 226-31.

Strelchenko N, Verlinsky O, Kukharenko V, Verlinsky Y: Morula-derived human embryonic stem cells. *Reprod Biomed Online*. 2004; 9: 623-9.

Verlinsky Y, Strelchenko N, Kukharenko V, Rechitsky S, Verlinsky O, Galat V, Kuliev A: Human embryonic stem cell lines with genetic disorders. *Reprod Biomed Online*. 2005; 10: 105-10.

Willenbring H, Bailey AS, Foster M, Akkari Y, Dorrell C, Olson S, Finegold M, Fleming WH, Grompe M: Myelomonocytic cells are sufficient for therapeutic cell fusion in liver. *Nat Med*. 2004; 10: 744-8.

Zhang S, Wang D, Estrov Z, Raj S, Willerson JT, Yeh ET: Both cell fusion and transdifferentiation account for the transformation of human peripheral blood CD34-positive cells into cardiomyocytes in vivo. *Circulation*. 2004; 110: 3803-7.



Gesamtherstellung: H. Heenemann GmbH & Co., Buch- und Offsetdruckerei, Bessemerstraße 83–91, 12103 Berlin
Vertrieb: Bundesanzeiger Verlagsgesellschaft mbH, Amsterdamer Str. 192, 50735 Köln, Telefon (02 21) 97 66 83 40, Telefax (02 21) 97 66 83 44
ISSN 0722-8333